Iranian Food Science and Technology
Research Journal
Homepage: https://ifstrj.um.ac.ir

Research Article
Vol. 20, No. 2, May-June 2024, p. 249-266

Investigating the Effect of Ozone on the Physicochemical, Microbial and Sensory Properties of Brined Ultrafiltered Cheese During Ripening

A.A. Gholamhosseinpour[1*], A. Karimi Davijani[2], M. Karami[3]

1 and 2- Assistant Professor and Former M.Sc. Student, Department of Food Science and Technology, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran, respectively.
(*- Corresponding Author Email: ghali@jahromu.ac.ir)
3- Associate Professor, Department of Food Science and Technology, Faculty of Food Science and Technology, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran

Received: 26.03.2023 Revised: 24.06.2023 Accepted: 01.07.2023 Available Online: 01.07.2023	**How to cite this article:** Gholamhosseinpour, A.A., Karimi Davijani, A., & Karami, M. (2024). Investigating the effect of ozone on the physicochemical, microbial and sensory properties of brined ultrafiltered cheese during ripening. *Iranian Food Science and Technology Research Journal, 20*(2), 249-266. (In Persian with English abstract). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.81663.1244

Introduction

Cheese is the general name of a group of fermented dairy products that are produced all over the world in a variety of flavors, textures, and shapes. This product considered a source of protein, minerals, and vitamins, all of which add to its high nutritional value. White-brined cheeses are soft cheeses that ripen in brine. Brined ultrafiltered cheese, as a popular product, has attracted a broad consumer market in our country. The use of thermal processes to prolong the shelf life of foods has long been considered, but these methods lead to a decrease in nutritional value and product quality. Emerging non-thermal technologies, including ultrasound, pulsed electric field, high hydrostatic pressure, cold plasma and ozone have revolutionized the food processing sector. These processes can improve the safety and quality of food products and increase their shelf life by reducing food spoilage. In addition to expanding food shelf life, these technologies are experiencing more orogress in the industry due to reduced energy consumption. Ozone is one of the most effective disinfectants known that does not leave any dangerous residue on food or other surfaces in contact. Ozone treatment does not require heat and therefore saves energy. Ozonation, as a novel technology, is widely used in preserving meat, processing oysters, inhibiting microbial growth, and oxidizing phenolic compounds. Ozone has been mainly used in the dairy industry to reduce or inhibit the growth of pathogenic or spoilage microorganisms. However, its effect on the non-microbial properties of dairy products has not been studied much.

Materials and Methods

Cheese production was carried out by ultrafiltration technology in the Hamedan Pegah dairy complex (Hamedan, Iran). The starter culture used in cheese production was R708 (containing *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* and *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*), which was obtained from Christian Hansen, Denmark. Microbial renin enzyme (Proteria, Handry Company, Belgium) was also used for coagulation. Analytical grade chemicals were also purchased from Merck, Darmstadt, Germany. Ozone gas at concentrations of 2 and 5 ppm was used in different stages of brined ultrafiltered cheese production and then the samples were subjected to physicochemical (total solids (TS), ash, pH, salt, protein, fat, acid degree value (ADV)), microbiological and organoleptic (based on the 5-point hedonic scale) analyses at 35-day intervals during a ripening period of 105 days. The studied treatments were: Ozonization of retentate simultaneously with starter inoculation (OA), Ozonization of retentate before starter inoculation (OB), Ozonization of retentate (before starter inoculation) and brine (OC), Ozonization of brine (OD) and control (C). Statistical analysis (One-way ANOVA and Duncan) was performed at a significance level of 95% by the SPSS package program (v. 20.0, Chicago, IL, USA).

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.81663.1244

Results and Discussion

Based on the results, the amounts of total solids, ash, salt, ADV and syneresis of cheeses increased significantly ($p \leq 0.05$), while the protein and fat contents of the samples decreased significantly ($p \leq 0.05$) during the ripening period. The pH of the samples decreased from day 0 to 35 and then increased in most samples until the end of the ripening period. The total counts in the samples increased initially until day 70 but then decreased until the end of the ripening period. In general, during the ripening, cheeses treated with 5 ppm ozone had lower microbial load and higher lipolysis compared to samples treated with 2 ppm ozone. In addition, in most treatments, the sensory scores of cheese samples at the end of the ripening period were significantly ($p \leq 0.05$) higher than those at the beginning of the ripening period. The application of ozone treatment was able to improve some of the sensory properties of the cheeses. In general, this improvement was not statistically significant compared to the control, especially at the end of the ripening period.

The positive microbial and physicochemical effects of ozone treatment on cheese samples leading to increase the shelf life of brine cheese up to 105 days (30 days more than usual) without having a negative effect on its sensory properties. Therefore, ozone can be used as a non-thermal treatment to extend shelf life and improve some physicochemical characteristics of cheese.

Keywords: Brined cheese, Ozonation, Physicochemical properties, Storage period

نشریه پژوهشهای علوم و صنایع غذایی ایران
https://ifstrj.um.ac.ir

مقاله پژوهشی
جلد ۲۰، شماره ۲، خرداد-تیر ۱۴۰۳، ص. ۲۶۶-۲۴۹

بررسی اثر اُزن بر ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی پنیر فراپالایش آب‌نمکی طی دوره رسیدگی

علی‌اکبر غلامحسین‌پور[1*]- علی کریمی‌داویجانی[2]- مصطفی کرمی[3]

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۴/۱۰

چکیده

اُزن یک فرایند غیرحرارتی است که می‌تواند باعث بهبود کیفیت و ارتقای ایمنی مواد غذایی شده و دوره نگهداری آنها را افزایش دهد. در این پژوهش، از گاز اُزن در غلظت‌های ۲ و ۵ ppm، در تولید پنیر فراپالایش آب‌نمکی استفاده گردید و پس از آن نمونه‌ها طی دوره رسیدگی ۱۰۵ روزه مورد آزمایش‌های میکروبی، فیزیکوشیمیایی و حسی قرار گرفتند. اُزن‌زنی کنسانتره همزمان با تلقیح آغازگر (OA)، اُزن‌زنی کنسانتره قبل از تلقیح آغازگر (OB)، اُزن‌زنی کنسانتره (قبل از تلقیح) و آب‌نمک (OC)، اُزن‌زنی آب‌نمک (OD) و نمونه شاهد (C) تیمارهای مورد استفاده بودند. طبق نتایج، مقادیر مواد جامد، خاکستر، نمک، عدد اسیدی و آب‌اندازی پنیرها با گذشت زمان رسیدگی به‌طور معنی‌داری ($p\leq۰/۰۵$) افزایش پیدا کرد، درحالی‌که مقادیر پروتئین و چربی نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری ($p\leq۰/۰۵$) کاهش یافت. pH نمونه‌ها نیز از روز صفر تا ۳۵ کاهش و پس از آن در اکثر نمونه‌ها تا انتهای دوره رسیدگی افزایش پیدا کرد. شمارش کلی میکروبی نمونه‌ها نیز ابتدا تا روز ۷۰ افزایش یافت، اما در ادامه تا انتهای دوره رسیدگی کاهش پیدا کرد. طی رسیدگی، شمارش کلی پنیرهای تیمار شده با دوز ppm ۵ اُزن، کمتر از نمونه‌های تیمار شده با دوز ppm ۲ اُزن بود. پنیرهای تیمار شده با دوز ppm ۵ اُزن نیز عدد اسیدی بیشتری از نمونه‌های تیمار شده با دوز ppm ۲ اُزن داشتند. با افزایش زمان رسیدگی، عدد اسیدی نمونه‌های OD5 و OB5 به‌طور معنی‌داری ($p\leq۰/۰۵$) بیشتر از سایر نمونه‌ها بود. آب‌اندازی نمونه‌های OA5 و OB5 از روز ۷۰ به بعد به‌طور معنی‌داری ($p\leq۰/۰۵$) از دیگر نمونه‌ها بالاتر بود. در بیشتر تیمارها، امتیاز حسی پنیرهای انتهای دوره رسیدگی در مقایسه با پنیرهای ابتدای دوره به‌طور معنی‌داری ($p\leq۰/۰۵$) بالاتر بود و هرچند تیمار اُزن توانست برخی از ویژگی‌های حسی پنیرها را ارتقا دهد، اما در کل این افزایش نسبت به نمونه شاهد، خصوصاً در انتهای دوره رسیدگی، معنی‌دار نبود.

واژه‌های کلیدی: اُزن‌زنی، پنیر آب‌نمکی، دوره نگهداری، ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی

مقدمه

استفاده از فرآیندهای حرارتی به‌منظور افزایش ماندگاری مواد غذایی از دیرباز مورد توجه بوده است، اما این روش‌ها منجر به کاهش ارزش غذایی و افت کیفیت محصول می‌شوند. فناوری‌های غیرحرارتی نوظهور از جمله فراصوت، میدان الکتریکی پالسی، فشار هیدرواستاتیک بالا و فناوری اُزن بخش فرآوری مواد غذایی را متحول کرده و با کاهش فساد مواد غذایی، باعث بهبود و ارتقای سطح ایمنی و کیفی مواد غذایی و افزایش ماندگاری آنها شده‌اند (Allai *et al.*, 2022).

اُزن یکی از مؤثرترین مواد ضد عفونی‌کننده شناخته شده است که هیچ‌گونه باقی‌مانده خطرناکی بر سطوح مواد غذایی و یا سایر سطوح در تماس با آن باقی نمی‌گذارد. تیمار اُزن نیاز به گرما نداشته و از این رو باعث صرفه‌جویی در مصرف انرژی می‌شود (Khadre *et al.*, 2001).

۱ و ۲- به‌ترتیب استادیار و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: ghali@jahromu.ac.ir)
۳- دانشیار، گروه علوم و صنایع غذایی، دانشکده علوم و صنایع غذایی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران

https://doi.org/10.22067/ifstrj.2023.81663.1244

اُزن، به‌عنوان یک گاز بسیار واکنش‌پذیر، نسبتاً ناپایدار بوده و در محلول آبی (آب مقطر ۲۰ درجه سانتی‌گراد) نیمه عمری حدود ۲۰ تا ۳۰ دقیقه دارد. در صورت وجود مواد آلی در محیط، نیمه عمر اُزن کوتاه‌تر خواهد بود (Eglezos & Dykes, 2018). تأثیرات ضد میکروبی اُزن بر طیف گسترده‌ای از میکروارگانیسم‌ها از جمله باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی و اسپورهای باکتریایی تأیید شده است (Kunicka-Styczyńska & Rajkowska, 2011). اُزن کاربردهای بسیاری در زمینه‌های مختلف از جمله نگهداری گوشت، فرآوری صدف، جلوگیری از رشد مخمرها وکپک‌های موجود در میوه‌جات، تخم مرغ و پنیر، اکسایش آهن و منگنز موجود در آب آشامیدنی، اکسایش ترکیبات فنلی و سموم دفع آفات و همچنین کنترل رنگ آب‌های سطحی و حضور جلبک‌ها دارد (O'Donnell *et al.*, 2012).

پنیر نام عمومی گروهی از فرآورده‌های لبنی تخمیری است که در سراسر جهان در طعم، بافت و شکل‌های بسیار متنوعی تولید می‌شود. (Gunasekaran & Ak, 2002). پنیرهای سفید تهیه شده در آب نمک اساساً جزء پنیرهای نرم می‌باشند که در آب نمک رسیده و نگهداری می‌شوند. مهمترین دلایل استفاده از آب نمک در این فرآورده‌ها جذب آب اضافی و تکمیل آب‌گیری دلمه، افزایش قوام و استحکام دلمه، جلوگیری از رشد میکروارگانیسم‌های نامطلوب، تعدیل رشد میکروارگانیسم‌های مطلوب از جمله باکتری‌های اسید لاکتیک، کنترل فعالیت آنزیمی طی دوره رسیدگی پنیر و ایجاد عطر و طعم مناسب از طریق کنترل واکنش‌های بیوشیمیایی نظیر پروتئولیز، لیپولیز و گلیکولیز می‌باشند (Dorosti *et al.*, 2011). امروزه پنیر فراپالایش آب‌نمکی، به‌عنوان یک محصول پرطرفدار، بازار مصرف مناسبی را به خود اختصاص داده است.

هدف تیمار محصولات لبنی با اُزن، افزایش کیفیت و کاهش آلودگی میکروبی آنها می‌باشد. در یک پژوهش مشخص شد که اُزن باعث غیر فعال شدن کامل *لیستریا مونوسیتوژنز* در شیر خام می‌گردد (Sheelamary & Muthukumar, 2011). در پژوهشی دیگر از اُزن برای پیش‌تیمار شیر خام، قبل از فرآیند حرارتی پاستوریزاسیون، استفاده گردید. این فرآیند باعث ماندگاری طولانی شیر با حفظ محتوای چربی و پروتئین گردید و هیچ اثری از اکسیداسیون مشاهده نشد (Varga & Szigeti, 2016).

سگات و همکاران (Segat *et al.*, 2014)، آب اُزنیزه را به‌عنوان یک ضدعفونی‌کننده مؤثر برای سطح پنیر موزارلا پیشنهاد کردند. در مطالعه آنها، پیش‌تیمار آب با ۲ میلی‌گرم در لیتر اُزن منجر به بهبود کیفیت میکروبی و افزایش ماندگاری محصول نهایی گردید. سوپراپتو و همکاران (Suprapto *et al.*, 2021)، تأثیر اُزن بر فعالیت فیزیکوشیمیایی و میکروبی شیر تازه را مورد مطالعه قرار دادند. آنها شیر را به‌مدت صفر (شاهد)، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه تحت تیمار اُزن (۰/۷۰۲ میلی‌گرم در دقیقه) قرار داده و تأثیر آن را بر دانسیته، پروتئین، چربی و شمارش کلی باکتری‌ها بررسی کردند. نتایج نشان داد که تیمار اُزن تأثیر معنی‌داری بر دانسیته، پروتئین و چربی شیر نداشت، امّا اثر آن بر شمارش کلی باکتری‌ها معنی‌دار بود ($p \leq ۰/۰۵$) و تعداد آنها در طول زمان قرار گرفتن در معرض اُزن کاهش یافت. در پژوهش دیگری، آب اُزنیزه (۲ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۱ تا ۲ دقیقه) برای بهبود کیفیت میکروبی پنیر میناس فرسکال مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که اگرچه اُزن تعداد کل مزوفیل‌های هوازی، باکتری‌های اسید لاکتیک، کپک و مخمر را کاهش داد، اما پس از ۳۰ روز نگهداری، بر میزان بقای این میکروارگانیسم‌ها تأثیری نداشت. با این وجود، اُزن توانست خصوصیات فیزیکی و شیمیایی اولیه پنیر را حفظ کند (Cavalcante *et al.*, 2013).

در پژوهش حاضر تاثیر اُزن بر ویژگی‌های میکروبی، فیزیکوشیمیایی و حسی پنیر فراپالایش آب‌نمکی طی دوره رسیدگی بررسی گردید. به‌دلیل غیر مداوم بودن خط تولید پنیر فراپالایش آب نمکی امکان بروز آلودگی ثانویه در خط بسیار شایع می‌باشد که یکی از اهداف این پژوهش بررسی قابلیت کاربردی اُزن جهت رفع این مشکل می‌باشد. علاوه‌بر این، پتانسیل اُزن در افزایش دوره نگهداری پنیرها نیز مورد بررسی قرار گرفت. همچنین، با توجه به ضعیف بودن خواص حسی پنیر فراپالایش، یکی دیگر از اهداف، بررسی اثر اکسایشی اُزن جهت اصلاح خواص ارگانولپتیک محصول طی دوره رسیدگی بود.

مواد و روش‌ها

تولید پنیر

نمونه‌های پنیر در کارخانه پگاه همدان تولید شدند. پس از استانداردسازی و تهیه کنسانتره، عملیات هموژنیزاسیون و سپس پاستوریزاسیون (۷۵ درجه سانتی‌گراد) انجام گردید. در ادامه کنسانتره جهت تلقیح آغازگر تا دمای ۴۰ الی ۴۵ درجه سانتی‌گراد خنک گردید. پس از تلقیح آغازگر و به‌منظور تشکیل دلمه اولیه، رنت با کنسانتره مخلوط شد و حلب‌ها به‌صورت لایه با کنسانتره پر گردیدند. به منظور کاهش pH تا ۴/۸، پنیرها حدود ۱۲ تا ۱۵ ساعت گرمخانه‌گذاری شدند. پس از این مدت، عملیات برش‌زنی دلمه توسط تیغه‌های مخصوص انجام شد و سپس آب‌نمک ۱۰ تا ۱۲ درصد به پنیرها اضافه گردید. در نهایت نیز حلب‌ها دربندی شده و برای انجام آزمون‌های فیزیکوشیمیایی، میکروبی و حسی طی دوره رسیدگی ۱۰۵ روزه به سردخانه ۵ درجه سانتی‌گراد منتقل گردیدند. تیمارهای اعمال شده اُزن در مراحل مختلف تولید پنیر عبارت بودند از: اُزن‌زنی کنسانتره همزمان با تلقیح آغازگر (OA)، اُزن‌زنی کنسانتره قبل از تلقیح آغازگر

(OB)، اُزن‌زنی کنسانتره (قبل از تلقیح آغازگر) و آب نمک (OC) و اُزن‌زنی آب نمک تنها (OD). در تمامی تیمارها از اُزن گازی در غلظت‌های ۲ و ۵ پی‌پی‌ام استفاده گردید. از این رو، اعداد بعد از کد هر تیمار بیانگر میزان دوز مصرفی اُزن می‌باشد. کد C نیز نمونه شاهد یا بدون تیمار اُزن می‌باشد.

شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها

جهت شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها طبق استاندارد ملی ایران، از روش کشت مخلوط در محیط‌کشت پلیت کانت آگار و گرمخانه‌گذاری به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد استفاده گردید (ISIRI, 2015).

ماده خشک

اندازه‌گیری ماده جامد براساس روش وزنی انجام پذیرفت (AOAC, 2005).

خاکستر

مقدار خاکستر نمونه‌ها توسط کوره الکتریکی در دمای ۵۰۰ درجه سانتی‌گراد به روش وزنی اندازه‌گیری گردید (AOAC, 2005).

pH

برای اندازه‌گیری pH، طبق استاندارد ملی ایران، پس از کالیبراسیون pH متر Metrohm سوئیس با بافرهای ۴ و ۷، الکترود دستگاه به‌طور مستقیم درون قالب پنیر قرار گرفت (ISIRI, 2022).

نمک

برای اندازه‌گیری مقدار نمک از روش مور استفاده شد. در این روش، از نیترات نقره ۰/۱ نرمال به‌عنوان عامل تیترکننده و از کرومات پتاسیم به‌عنوان شناساگر استفاده گردید (IDF, 1988).

پروتئین کل

ازت کل نمونه‌های پنیر به‌روش کلدال اندازه‌گیری شد. مقدار نمونه برای هر یک از پنیرها ۵ گرم بود، مقدار پروتئین کل از حاصل‌ضرب مقدار ازت اندازه‌گیری شده در ضریب تبدیل ۶/۲۵ محاسبه گردید (AOAC, 2005).

چربی

مقدار چربی نمونه‌ها به‌روش ژربر و با استفاده از سانتریفیوژ ژربر Funke ساخت کشور آلمان اندازه‌گیری شد (BSI, 1989).

عدد اسیدی (لیپولیز)

میزان لیپولیز پنیرهای تولیدی، که به‌صورت مقدار درجه اسیدی (ADV) نشان داده می‌شود، طبق روش نونز–الیسا و داونپورت (Nunez-Elisea & Davenport, 1986)، اندازه‌گیری گردید. بدین منظور ابتدا ۱۰ گرم پنیر با ۶ گرم سولفات سدیم بدون آب مخلوط و سپس ۶۰ میلی‌لیتر حلال دی‌اتیل اتر، جهت استخراج چربی، به ترکیب اضافه شد. برای اختلاط کامل و خروج بهتر چربی از نمونه، از همزن مغناطیسی استفاده گردید. مخلوط حاصله با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۴۲ صاف شد. رسوب باقی‌مانده دو بارِ متوالی و هر بار با ۲۰ میلی‌لیتر دی‌اتیل اتر شسته شد. محلول زیرِ صافی با محلول پتاس اتانولی ۰/۱ نرمال در حضور معرف فنل‌فتالئین تا ایجاد رنگ ارغوانی پایدار به‌مدت ۲۰ ثانیه تیتر گردید. بعد از تیتراسیون، حلال با استفاده از دستگاه اواپراتور چرخان، تبخیر شد. در نهایت چربی باقی‌مانده توزین و مقدار کل اسیدهای چرب آزاد در پنیر بر حسب میلی‌اکی‌والان در ۱۰۰ گرم چربی گزارش شد.

آب‌اندازی (سینرسیس)

برای تعیین مقدار آب‌اندازی پنیرها، آب نمک خروجی از دلمه، وزن شده و به‌صورت درصدی از وزن کل محتویات درون کاپ بیان گردید (Karimi *et al.*, 2012).

ارزیابی حسی

ارزیابی خصوصیات حسی نمونه‌ها بر مبنای مقیاس هدونیک ۵ نقطه‌ای صورت گرفت. ارزیابی حسی توسط ۱۰ نفر از ارزیابان آموزش دیده در روزهای اول و آخر دوره نگهداری پنیر انجام شد. در این آزمون مکعب‌های ۲۰ گرمی پنیر در اختیار ارزیابان قرار گرفت و از آنان خواسته شد تا قبل از انجام هر آزمون دهان خود را با آب بشویند. بدین‌منظور، صفات طعم، آروما، بافت، رنگ و پذیرش کلی نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت (Gholamhosseinpour *et al.*, 2022). طعم مجموع کل تأثیرات حسی یا احساسات درک شده هنگام قرار گرفتن ماده غذایی در دهان می‌باشد. آروما درک ما از ترکیبات فرّاری است که از غذا آزاد می‌شوند. بافت اصطلاح پیچیده‌ای است که با ساختار ماده غذایی مرتبط بوده و خواص مکانیکی، هندسی و رطوبتی آن را در بر می‌گیرد. رنگ به‌عنوان ادراک ناشی از نور در تعامل با ماده غذایی تعریف می‌شود. پذیرش کلی نیز درک کلی و نهایی ما از ماده غذایی با در نظر گرفتن ویژگی‌های مختلف حسی می‌باشد (Clark *et al.*, 2009).

تجزیه و تحلیل آماری

در این پژوهش، از آزمون فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی استفاده گردید. آنالیز واریانس با استفاده از ANOVA و مقایسه میانگین‌ها با روش دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد توسط نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۰۱۹ انجام گرفت. رسم منحنی‌ها نیز با استفاده از نرم‌افزار Microsoft Excel 2016 صورت پذیرفت.

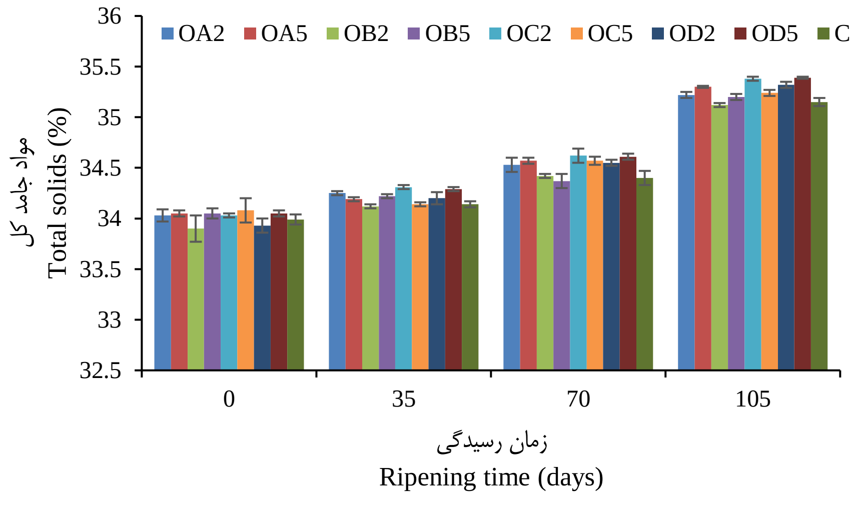
نتایج و بحث

تأثیر تیمار اُزن بر میزان مواد جامد کل پنیر طی دوره رسیدگی

شکل ۱ اثر تیمار اُزن بر میزان مواد جامد کل نمونه‌های پنیر طی دوره رسیدگی را نشان می‌دهد. میزان مواد جامد کل در تمام نمونه‌ها از روز صفر تا ۱۰۵ دوره رسیدگی به‌طور پیوسته و معنی‌داری (p ≤ ۰/۰۵) افزایش یافت. کمترین و بیشترین میزان مواد جامد کل به‌ترتیب مربوط به نمونه‌های OD2 (۳۳/۹۳ ٪ در روز صفر) و OD5 (۳۵/۳۹ ٪ در روز ۱۰۵) بود. بیشتر بودن مواد جامد در نمونه‌های تیمار شده با دوز بالاتر اُزن ممکن است به‌دلیل دناتوراسیون گسترده‌تر پروتئین باشد که نگهداری آب را کاهش داده و باعث خروج بیشتر سرم از دلمه و به‌دنبال آن افزایش ماده خشک پنیر می‌شود. در اکثر زمان‌های رسیدگی، نمونه‌های OC2 و OD5 مواد جامد کل بیشتری نسبت به سایر نمونه‌ها داشتند. در انتهای دوره رسیدگی، مقدار مواد جامد کل نمونه OD5 به‌طور معنی‌داری (p ≤ ۰/۰۵) از میزان مواد جامد کل سایر نمونه‌ها، به جز نمونه‌های OC2 و OD2 بالاتر بود. میزان مواد جامد کل نمونه شاهد در ۳۵ روز ابتدایی دوره رسیدگی، با اکثر نمونه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت، اما با افزایش زمان رسیدگی این اختلاف بیشتر شد، به‌گونه‌ای که در روز ۱۰۵ دوره رسیدگی به‌طور معنی‌داری از مواد جامد کل سایر نمونه‌ها، به جز نمونه‌های OA2، OB5 و OB2، کمتر بود.

نتایج یافته‌های ذنوبی و گلی (Zonoubi & Goli, 2021) بر روی پنیر فتا نشان داد که مواد جامد کل پنیر طی ۶۰ روز رسیدگی روند افزایشی داشته است. سربازی و همکاران (Sarbazi *et al.*, 2015) در پژوهش خود بر روی پنیر کوزه، دلیل افزایش مواد جامد کل پنیر را افزایش میزان جذب نمک طی دوره رسیدگی عنوان کردند. به‌طور کلی، دمای بالای نگهداری پنیر (با تاثیر بر هیدراسیون کازئین)، افزایش غلظت نمک در دلمه (با افزایش میزان آب‌اندازی)، تبخیر آب طی دوره رسیدگی، جذب پایین آب در پنیرهای با pH پایین (به‌دلیل افزایش سرعت نوآرایی پیوندهای پروتئین- پروتئین در ژل‌های کازئینی با کاهش pH) از جمله دلایل افزایش میزان مواد جامد کل می‌باشند (Gholamhosseinpour *et al.*, 2022).

سرت و مرکان (Sert & Mercan, 2021) در بررسی اثر اُزن بر ویژگی‌های میکروبیولوژیک و فانکشنال شیر خشک پس‌چرخ گزارش کردند که این تیمار حتی به مدت ۱۲۰ دقیقه نیز تأثیر معنی‌داری بر محتوای رطوبتی محصول نداشت.



شکل ۱- تأثیر تیمار اُزن بر میزان مواد جامد کل پنیر طی دوره رسیدگی

Fig. 1. The effect of ozone treatment on the amount of cheese total solids during ripening

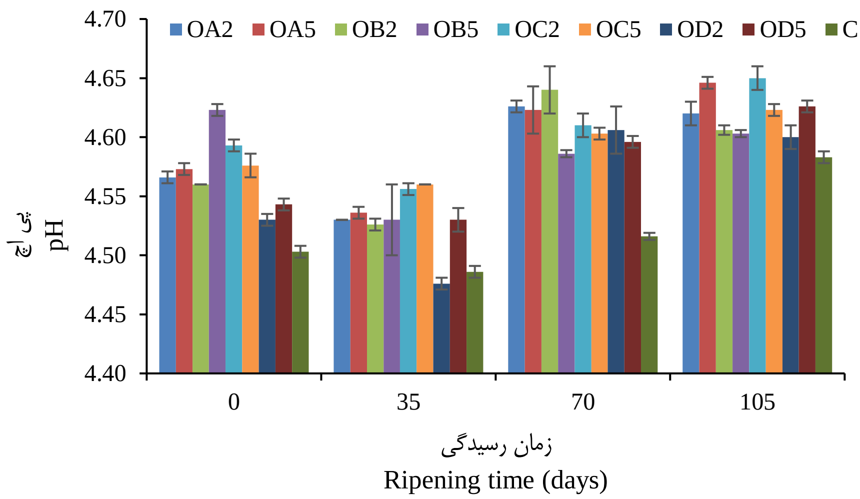
گراسو و همکاران (Grasso *et al.*, 2023) با بررسی اثر تیمار اُزن گازی (۲۰۰ و ۳۰۰ ppb) بر ویژگی‌های کیفی پنیر پکورینو، در انتهای دوره رسیدگی ۵ ماهه تفاوت معنی‌داری را بین میزان مواد جامد نمونه‌های شاهد و تیمار شده با ۲۰۰ppb اُزن مشاهده نکردند، هر چند میزان مواد جامد نمونه‌های تیمار شده با دوز ۳۰۰ ppb اُزن به‌طور معنی‌داری از دو مورد دیگر بیشتر بود.

تأثیر تیمار اُزن بر pH پنیر طی دوره رسیدگی

اثر تیمار اُزن بر pH نمونه‌های مختلف پنیر طی دوره رسیدگی در شکل ۲ ارائه شده است. مقدار pH نمونه‌های مختلف طی دوره رسیدگی از ۴/۴۸ در روز ۳۵ برای نمونه OD2 تا ۴/۶۵ در روز ۱۰۵ برای نمونه OC2 متغیر بود. pH نمونه‌ها از روز صفر تا ۳۵ کاهش و پس از آن تا روز ۷۰ دوره رسیدگی افزایش یافت و این روند در اکثر نمونه‌ها تا روز ۱۰۵ ادامه پیدا کرد. برای تمام نمونه‌ها، pH روز ۳۵ به‌طور معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) پایین‌تر از pH انتهای دوره رسیدگی بود. به‌طور کلی، بین نمونه‌های مختلف، نمونه شاهد کمترین مقدار pH را طی دوره رسیدگی نشان داد، به جز روز ۳۵ که آن هم تفاوت معنی‌داری با نمونه OD2 نداشت.

برخی پژوهشگران نیز پس از کاهش اولیه pH، عدم تغییر و یا افزایش pH در انتهای دوره رسیدگی را گزارش کرده‌اند (Özer *et al.*, 2003; Lopez *et al.*, 2007). دلیل افزایش pH در اواخر دوره رسیدگی، تولید محصولات ناشی از پروتئولیز یا کاتابولیسم (دکربوکسیلاسیون و دآمیناسیون) اسیدهای آمینه نظیر آمونیاک و همچنین متابولیسم اسید لاکتیک توسط مخمرها و کپک‌ها عنوان شده است (Gobbetti *et al.*, 1997; Hayaloglu *et al.*, 2007).

نتایج یافته‌های شانشول (Shanshool, 2020) بر روی شیر تیمار شده با گاز اُزن، برای ساخت پنیر نرم، نشان داد که شیرهای تیمار شده با اُزن در غلظت ۰/۵ گرم بر ساعت در مدت زمان تماس ۵، ۱۵ و ۳۰ دقیقه، میزان pH بالاتری، مخصوصاً در مدت زمان تماس ۱۵ و ۳۰ دقیقه، نسبت به نمونه شاهد داشتند. پژوهش کاوالکانته و همکاران (Cavalcante *et al.*, 2013). در مورد تأثیر تیمار اُزن بر پنیر میناس فرسکال برزیلی طی دوره نگهداری نیز نشان داد که نمونه‌های تیمار شده به‌مدت ۱ و ۲ دقیقه، از pH بالاتری نسبت به نمونه شاهد در طول دوره نگهداری برخوردار بودند. علاوه بر این، pH پنیرهای تیمار شده در مدت زمان ۲ دقیقه نیز نسبت به پنیرهایی که ۱ دقیقه در معرض اُزن قرار داشتند، بالاتر بود.



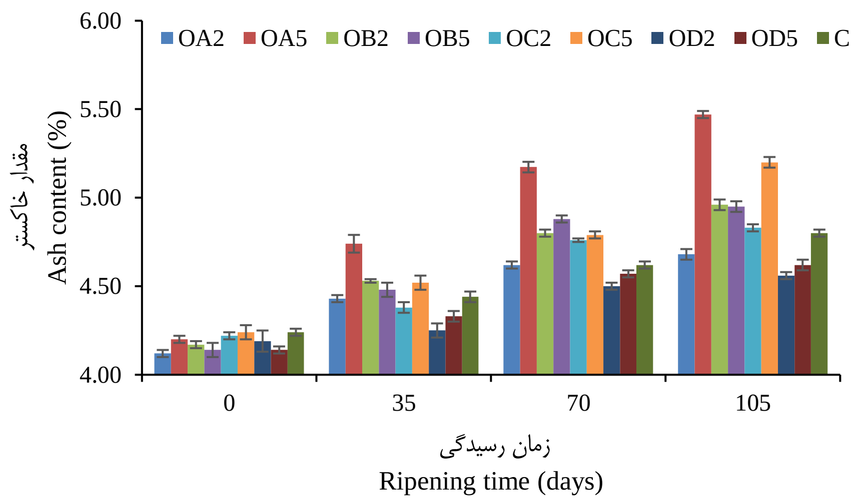
شکل ۲- تأثیر تیمار اُزن بر میزان pH پنیر طی دوره رسیدگی
Fig. 2. The effect of ozone treatment on the pH of cheese during ripening

تأثیر تیمار اُزن بر میزان خاکستر پنیر طی دوره رسیدگی

در شکل ۳ اثر تیمار اُزن بر میزان خاکستر نمونه‌های پنیر طی دوره رسیدگی نشان داده شده است. میزان خاکستر نمونه‌ها طی دوره رسیدگی به‌طور معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) افزایش پیدا کرد. نمونه OA2 با ۴/۱۲ ٪ در روز صفر کمترین و نمونه OA5 با ۵/۴۷ ٪ در روز ۱۰۵ بیشترین میزان خاکستر را داشتند. میزان خاکستر بیشتر نمونه‌ها در روز صفر تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند، اما در ادامه میزان خاکستر نمونه OA5 به‌طور معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) بالاتر از سایر نمونه‌ها بود. نتایج به‌دست‌آمده از مطالعه گراسو و همکاران (Grasso *et al.*, 2023) نشان‌دهنده روند غیر ثابتی در میزان خاکستر پنیرهای شاهد و تیمار

شده با اُزن بود. به‌طور کلی نمونه‌های تیمار شده با مقدار بالاتر اُزن (به استثنای OD5) پس از روز ۳۵ دوره رسیدگی در مقایسه با سایر نمونه‌ها حاوی خاکستر بیشتری بودند.

این نتایج با یافته‌های سلیمانی–رامبد و همکاران (Soleimani-Rambod *et al.*, 2015) (پنیر سفید ایرانی) و بیگ‌محمدی و همکاران (Beig Mohammadi *et al.*, 2015) (پنیر لور)، که افزایش میزان خاکستر پنیر طی دوره رسیدگی را گزارش کرده بودند، مطابقت داشت. آنها دلیل این افزایش را به افزایش غلظت نمک طی دوره رسیدگی نسبت دادند.



شکل ۳- تأثیر تیمار اُزن بر میزان خاکستر پنیر طی دوره رسیدگی

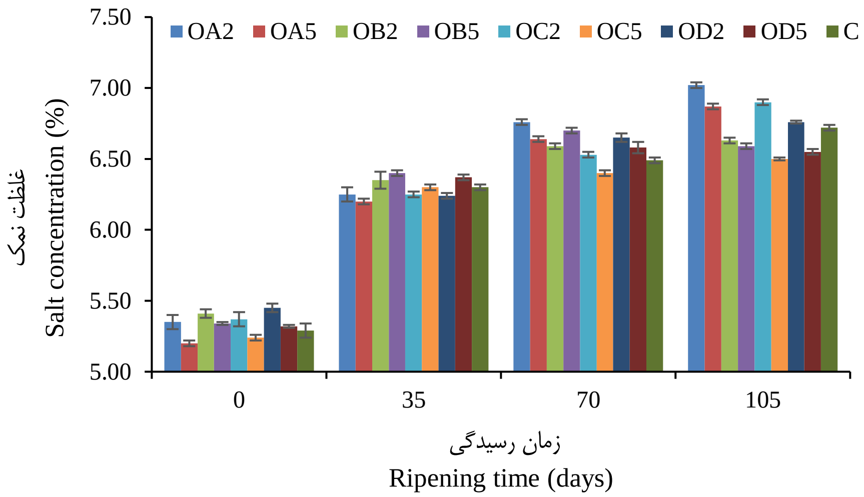
Fig. 3. The effect of ozone treatment on the amount of cheese ash during ripening

تأثیر تیمار اُزن بر میزان نمک پنیر طی دوره رسیدگی

اثر تیمار اُزن بر میزان نمک نمونه‌های پنیر طی دوره رسیدگی در شکل ۴ ارائه شده است. مقدار نمک طی دوره رسیدگی از ۵/۲ ٪ (نمونه OA5 در روز صفر) تا ۷/۰۲ ٪ (نمونه OA2 در روز ۱۰۵) متغیر بود. افزایش معنی‌دار ($p \leq ۰/۰۵$) غلظت نمک در ۳۵ روز ابتدایی دوره رسیدگی با شیب بالایی صورت گرفت، اما در ادامه این افزایش با شیب ملایم‌تری دنبال شد. معنی‌داری تفاوت بین نمونه‌های مختلف در انتهای دوره رسیدگی ملموس‌تر بود که می‌تواند ناشی از افزایش آب‌اندازی در انتهای دوره رسیدگی باشد. در روز ۱۰۵ دوره رسیدگی، میزان نمک نمونه OA2 به‌طور معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) بیشتر از سایر نمونه‌ها بود. بین میزان نمک نمونه‌های OC2 و OA5 تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، در حالی‌که میزان نمک آنها پس از نمونه OA2 به‌طور معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) بیش از سایر نمونه‌ها نمود.

این نتایج با یافته‌های حاصل از پژوهش کنکرت (Cankurt, 2019) بر روی پنیر سفید ترکیه‌ای و همچنین با نتایج گزارش شده توسط سلیمانی–رامبد و همکاران (Soleimani-Rambod *et al.*, 2015) در مورد پنیر سفید ایرانی، که افزایش میزان نمک طی دوره رسیدگی را گزارش کرده بودند، مطابقت داشت. وقتی پنیر در آب نمک قرار می‌گیرد، مولکول‌های NaCl به‌صورت یون‌های Na^+ و Cl^- به‌دلیل اختلاف فشار اسمزی بین رطوبت پنیر و آب‌نمک، وارد بافت پنیر شده و در نتیجه میزان نمک تا پایان دوره رسیدگی افزایش می‌یابد (Forouzan *et al.*, 2009). این اختلاف در ابتدای دوره رسیدگی به مراتب بالاتر می‌باشد. افت رطوبت طی دوره رسیدگی نیز باعث افزایش غلظت نمک می‌گردد.

نمک با تحت تأثیر قرار دادن رشد میکروارگانیسم‌ها و در پی آن تولید اسیدلاکتیک، بر pH مؤثر می‌باشد. افزایش غلظت نمک ارتباط مستقیمی با افزایش pH دارد، که دلیل آن می‌تواند کاهش فعالیت میکروارگانیسم‌ها و درنتیجه کاهش اسید لاکتیک تولیدی در غلظت‌های بالای نمک باشد (Dorosti *et al.*, 2011).



شکل ٤- تأثیر تیمار اُزن بر میزان نمک پنیر طی دوره رسیدگی

Fig. 4. The effect of ozone treatment on the salt concentration of cheese during ripening

تأثیر تیمار اُزن بر میزان پروتئین پنیر طی دوره رسیدگی

شکل ۵ اثر تیمار اُزن بر میزان پروتئین نمونه‌های پنیر طی دوره رسیدگی را نشان می‌دهد. میزان پروتئین نمونه‌ها طی دوره رسیدگی به‌تدریج کاهش یافت و دامنه تغییرات آن در محدوده ۷/۹۰۶ ٪ (برای نمونه OC2 در روز صفر) تا ۷/۷۴۶ ٪ (برای نمونه OB5 در روز ۱۰۵) قرار داشت. مقدار پروتئین نمونه‌ها نیز در انتهای دوره رسیدگی نسبت به ابتدای آن به‌طور معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) کمتر بود. نمونه‌های OA2 و OD2 با ۱/۴۸ ٪ و ۰/۶۴ ٪ به‌ترتیب بیشترین و کمترین درصد کاهش مقدار پروتئین را طی دوره رسیدگی نشان دادند. نمونه شاهد نیز حدود ۱/۰۹ ٪ کاهش مقدار پروتئین داشت. کمتر بودن کاهش مقدار پروتئین در نمونه OD می‌تواند به خاطر اثر تخریبی کمتر اُزن بر روی پروتئین‌ها باشد، چرا که آب نمک اُزنه شده است و کنسانتره مستقیماً تحت تأثیر اُزن قرار نگرفته و از این رو شدت دناتوراسیون می‌تواند کمتر از زمانی باشد که کنسانتره به‌طور مستقیم اُزنه می‌شود.

این نتایج با یافته‌های گزارش شده توسط کایا (Kaya, 2002) بر روی پنیر آب‌نمکی ایتالیایی، عیاش و همکاران (Ayyash *et al.*, 2018) بر روی پنیر کم چرب عکاوی و غلامحسین‌پور و همکاران (Gholamhosseinpour *et al.*, 2022) در مورد پنیر سفید ایرانی، که کاهش میزان پروتئین طی دوره رسیدگی را گزارش کرده بودند، مطابقت داشت. کاهش میزان پروتئین طی دوره رسیدگی می‌تواند به‌دلیل پروتئولیز پروتئین توسط پروتئازهای طبیعی مانند پلاسمین و پروتئازهای میکروبی و تبدیل آن به پپتیدها و اسیدهای آمینه باشد (Milci *et al.*, 2005).

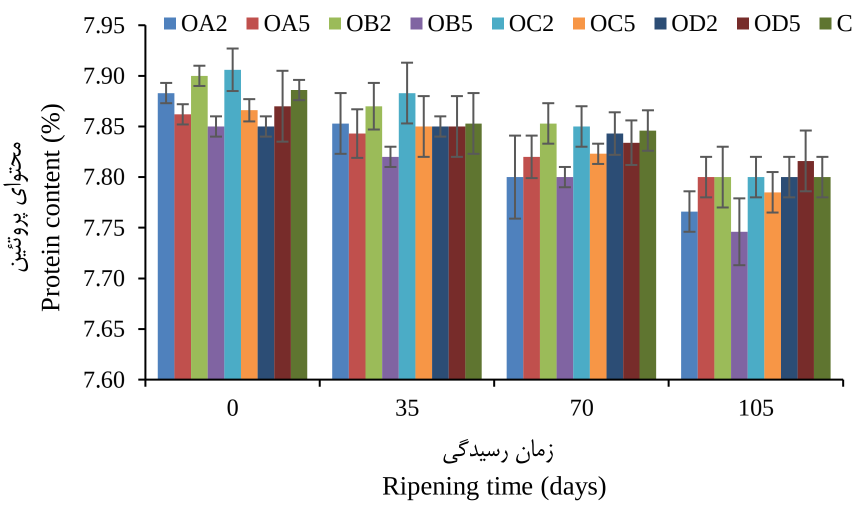
تأثیر تیمار اُزن بر میزان چربی پنیر طی دوره رسیدگی

شکل ۶ اثر تیمار اُزن بر میزان چربی نمونه‌های پنیر طی دوره رسیدگی را نشان می‌دهد. براساس شکل، مقدار چربی نمونه‌ها بین ۱۴٪ (برای نمونه‌های OB5 و OC2 در روز صفر و نمونه شاهد در روزهای صفر و ۳۵) و ۱۳/۸۷ ٪ (برای نمونه OA5 در روز ۱۰۵) نوسان داشت. میزان چربی نمونه‌ها طی دوره رسیدگی کاهش یافت و این کاهش از روز ۳۵ تا انتهای دوره رسیدگی معنی‌دار ($p \leq ۰/۰۵$) بود. میزان چربی نمونه‌های شاهد و OA5 در طول دوره رسیدگی (به جز روز صفر) به‌طور معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) به‌ترتیب بیشتر و کمتر از مقدار چربی سایر نمونه‌ها بود.

میلسی و همکاران (Milci *et al.*, 2005) (پنیر هالومی)، کرمی و همکاران (Karami *et al.*, 2009) (پنیر فتای فراپالایش)، شهاب‌لواسانی (Shahab-Lavasani *et al.*, 2012) (پنیر لیقوان) و غلامحسین‌پور و همکاران (Gholamhosseinpour *et al.*, 2022) (پنیر فتای فراپالایش آنالوگ) نیز گزارش کرده‌اند که میزان چربی با افزایش زمان رسیدگی به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد و دلیل آن را لیپولیز چربی‌ها و در نتیجه تولید گلیسرول و اسیدهای چرب آزاد عنوان نموده‌اند.

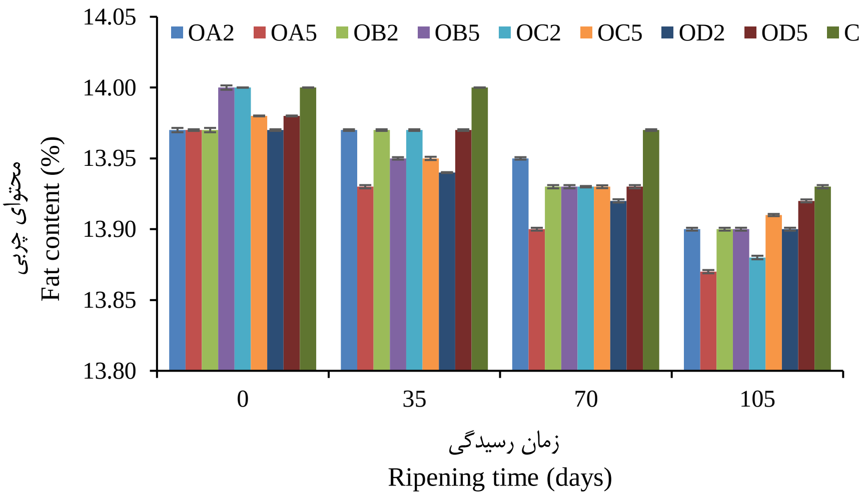
در پژوهشی که توسط کاوالکانته و همکاران (Cavalcante *et al.*, 2013) بر روی پنیر برزیلی میناس فرسکال انجام شد نیز مشخص گردید که نمونه‌های تیمار شده با اُزن در مدت زمان ۱ و ۲ دقیقه نسبت به نمونه شاهد در روز اول و آخر دوره رسیدگی مقدار چربی کمتری داشتند. یافته‌های شانشول (Shanshool, 2020) بر روی تیمار شیر توسط گاز اُزن برای ساخت پنیر نرم نشان داد که کاهش میزان چربی

پنیر می‌تواند ناشی از نقش اکسیدکنندگی اُزن بر ساختار چربی و تجزیه آن باشد. تابلا و روآ (Tabla & Roa, 2022) با بررسی تاثیر اُزن گازی بر نوعی پنیر نرم طی ۶۰ روز رسیدگی عنوان کردند که مقادیر چربی، ماده خشک، نمک و pH پنیر تیمار شده با اُزن تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد نداشت. اثر تیمار اُزن گازی (۲۰۰ و ۳۰۰ ppb) نیز بر ویژگی‌های کیفی پنیر پکورینو طی ۵ ماه رسیدگی بررسی گردید و نتایج حاکی از عدم تفاوت معنی‌دار بین میزان چربی نمونه‌های شاهد و تیمار شده با اُزن بود، هر چند در اواخر دوره نگهداری مقدار چربی نمونه‌های تیمار شده در مقایسه با نمونه شاهد کمتر بود (Grasso *et al.*, 2023).



شکل ۵- تأثیر تیمار اُزن بر میزان پروتئین پنیر طی دوره رسیدگی

Fig. 5. The effect of ozone treatment on cheese protein content during ripening



شکل ٦- تأثیر تیمار اُزن بر میزان چربی پنیر طی دوره رسیدگی

Fig. 6. The effect of ozone treatment on the fat content of cheese during ripening

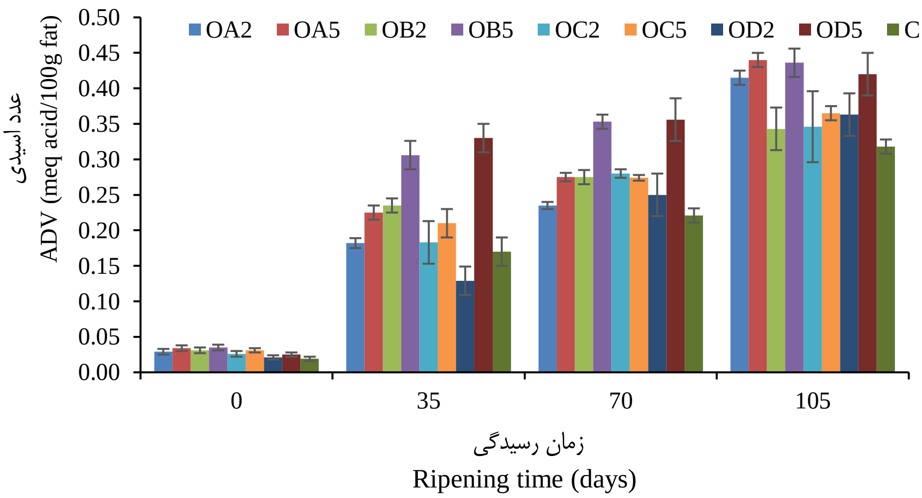
تأثیر تیمار اُزن بر میزان عدد اسیدی (ADV) پنیر طی دوره رسیدگی

اثر تیمار اُزن بر میزان عدد اسیدی (لیپولیز) نمونه‌های پنیر طی دوره رسیدگی در شکل ۷ نشان داده شده است. نتایج حاکی از افزایش معنی‌دار ($p \leq ۰/۰۵$) عدد اسیدی تمام نمونه‌ها با افزایش زمان رسیدگی بود. کمترین میزان عدد اسیدی (۰/۰۱۹ میلی‌اکی‌والان) مربوط به نمونه شاهد در ابتدای دوره رسیدگی بود، درحالی‌که بیشترین مقدار (۰/۴۴ میلی‌اکی‌والان) برای نمونه OA5 در روز ۱۰۵ به‌دست آمد. در روز صفر دوره رسیدگی تفاوت معنی‌داری میان عدد اسیدی هیچ‌یک از نمونه‌ها وجود نداشت، اما با پیشرفت زمان، عدد اسیدی نمونه‌های OD5 و

OB5 به‌طور معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) بیشتر از سایر نمونه‌ها بود، هر چند در روز آخر بین عدد اسیدی این دو نمونه و نمونه OA5 نیز تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. افزایش دوز اُزن مصرفی در هر تیمار نیز باعث افزایش عدد اسیدی نمونه‌های مربوطه در هر یک از زمان‌های رسیدگی گردید، به‌طوری که پنیرهای تیمار شده با ۵ ppm اُزن عدد اسیدی بالاتری نسبت به پنیرهای تیمار شده با ۲ ppm اُزن داشتند. دلیل این افزایش را می‌توان به مقدار بالاتر اُزن محلول و در نتیجه اثر اکسایشی بالاتر و تولید بیشتر محصولات ناشی از اکسایش نسبت داد.

تحقیقات ذنوبی و گلی (Zoonoubi & Goli, 2021) (پنیر فتا)، آتاسوی و تورکوغلو (Atasoy & Türkoğlu, 2008) (پنیر اورفا) و غلامحسین‌پور و همکاران (Gholamhosseinpour *et al.*, 2022) (پنیر فتای فراپالایش آنالوگ) در ارتباط با لیپولیز انواع مختلف پنیر نیز موید افزایش عدد اسیدی طی دوره رسیدگی می‌باشد. در این پژوهش‌ها، لیپاز طبیعی شیر، لیپاز موجود در برخی از مایه‌های آنزیمی و همچنین آزاد شدن لیپازهای میکروبی از عوامل مهم گسترش لیپولیز پنیر عنوان شده‌اند.

یافته‌های حاصل از پژوهش شانشول (Shanshool, 2020) بر روی تیمار شیر توسط گاز اُزن برای تولید پنیر نرم، افزایش میزان عدد اسیدی را نشان داد و دلیل آن نقش اکسایشی گاز اُزن در لیپولیز چربی عنوان گردید. محمدی و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2017) گزارش کردند که تیمار ۱۰ دقیقه‌ای شیر با اُزن باعث افزایش معنی‌دار اندیس پراکسید و اندیس آنیزیدین آن در مقایسه با نمونه شاهد و نمونه‌های تیمار شده در زمان‌های کمتر ۱۰ دقیقه گردید. آنها دلیل این افزایش را بروز واکنش‌های اکسایشی و تولید محصولات ناشی از اکسایش در نتیجه مقادیر بالاتر اُزن محلول عنوان کردند. سرت و همکاران (Sert *et al.*, 2020) نیز کاهش پایداری اکسایشی کره تولید شده از خامه تیمار شده با اُزن را نسبت به نمونه شاهد گزارش کرده و عنوان نمودند که افزایش مدت زمان تیمار باعث کاهش بیشتر پایداری اکسایشی کره تولیدی می‌گردد. آنها دلیل این ناپایداری را اثرات اکسایشی اُزن بر چربی شیر بیان کردند. پرنا و همکاران (Perna *et al.*, 2022) با تیمار شیر خامه‌ای با استفاده از اُزن طی ۶۰ دقیقه (در بازه‌های ۱۰ دقیقه‌ای) مشاهده کردند که با افزایش زمان تماس میزان اکسایش محصول به‌طور معنی‌داری افزایش پیدا می‌کند. آنها این ناپایداری اکسایشی را به عملکرد سومین اتم اکسیژن مولکول اُزن نسبت دادند که اتصال پایداری نداشته و می‌تواند به‌راحتی جدا شود و یک سیستم اکسیدکننده بسیار واکنشی ایجاد کند که بر یکپارچگی ساختاری مولکول‌های دیگر تأثیر می‌گذارد.



شکل ۷- تأثیر تیمار اُزن بر میزان عدد اسیدی (ADV) پنیر طی دوره رسیدگی

Fig. 7. The effect of ozone treatment on the acid degree value (ADV) of cheese during ripening

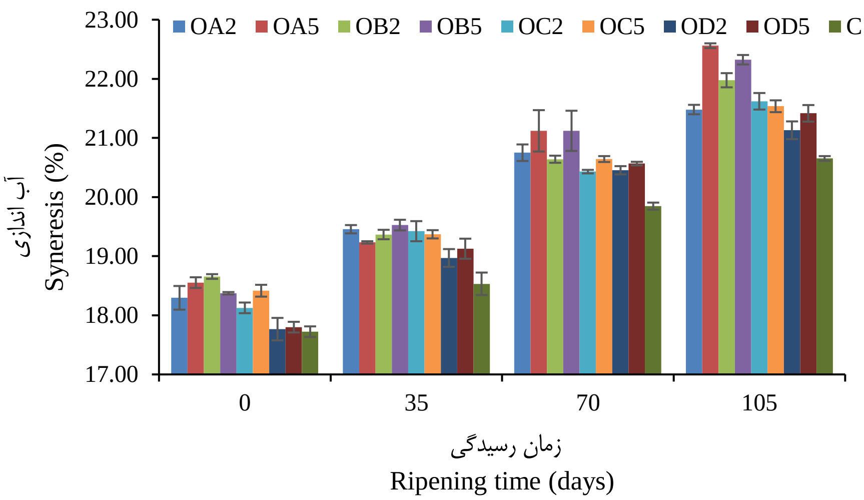
تأثیر تیمار اُزن بر میزان آب‌اندازی پنیر طی دوره رسیدگی

شکل ۸، اثر تیمار اُزن بر میزان آب‌اندازی (سینرسیس) نمونه‌های پنیر طی دوره رسیدگی را نشان می‌دهد. مطابق شکل، میزان آب‌اندازی پنیرها با گذشت زمان رسیدگی به‌طور معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) افزایش پیدا کرد، به‌طوری که کمترین مقدار آب‌اندازی (۱۷/۷۲ ٪) در زمان صفر برای نمونه شاهد و بیشترین مقدار آن (۲۲/۵۶ ٪) برای نمونه OA5 در زمان ۱۰۵ به‌دست آمد. در طول دوره رسیدگی، میزان آب‌اندازی نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) کمتر از سایر نمونه‌ها بود. از روز ۷۰ به بعد نیز میزان آب‌اندازی نمونه‌های OA5 و OB5 به‌طور معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) از دیگر نمونه‌ها بالاتر بود،

درحالی‌که مقدار آب‌اندازی آنها با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشت. همچنین، نمونه‌هایی که در آنها تنها آب نمک اُزنه شده بود نسبت به سایر تیمارها آب‌اندازی کمتری داشتند. این مساله را می‌توان به افزایش آب‌گریزی پروتئین‌های کنسانتره تحت تأثیر تیمار اُزن نسبت داد، چرا که در نمونه‌هایی که خود کنسانتره تحت تیمار اُزن قرار می‌گیرد (نه آب نمک)، اُزن با دناتوراسیون پروتئین‌ها باعث در معرض قرار گرفتن تعداد زیادی از گروه‌های آبگریز در سطح مولکولی شده و به‌دلیل تغییر قطبیت، توانایی پروتئین‌ها را برای اتصال به آب کاهش می‌دهد. بدین ترتیب در این نمونه‌ها نگهداری آب کاهش و میزان آب‌اندازی افزایش می‌یابد (Segat *et al.*, 2014).

نتایج یافته‌های ذنوبی و گلی (Zonoubi & Goli, 2021)، بر روی پنیر فتا طی دوره ۶۰ روزه رسیدگی نشان داد که آب‌اندازی پنیر از روز اول تا آخر رسیدگی روند افزایشی داشته است. آنها افزایش آب‌اندازی را خروج آب از شبکه ساختاری پنیر به‌دلیل افزایش جذب نمک در طول دوره رسیدگی عنوان کردند.

نتایج آلکسوپولوس و همکاران (Alexopoulos *et al.*, 2017) در ارتباط با تأثیر اُزن بر آب‌اندازی ماست نشان داد که نمونه‌هایی که ۳۰ ثانیه در معرض تیمار اُزن بودند نسبت به نمونه شاهد و تیمار ۱۰ و ۶۰ ثانیه‌ای اُزن، آب‌اندازی بیشتری در طول زمان نگهداری، مخصوصاً در روز آخر، داشتند.



شکل ۸- تأثیر تیمار اُزن بر میزان آب‌اندازی پنیر طی دوره رسیدگی

Fig. 8. The effect of ozone treatment on the syneresis of cheese during ripening

تأثیر تیمار اُزن بر شمارش کلی میکروارگانیسم‌های پنیر طی دوره رسیدگی

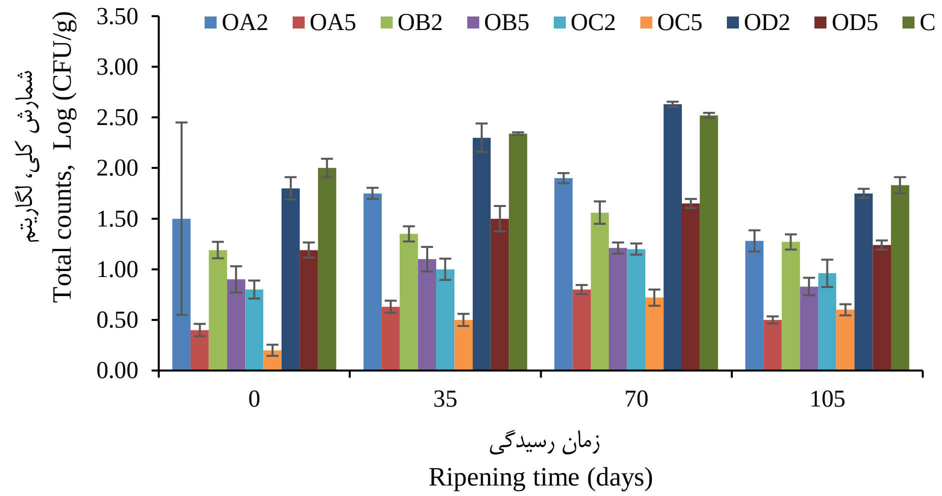
تغییرات شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌های مختلف پنیر تحت تاثیر تیمار اُزن در طول دوره رسیدگی در شکل ۹ ارائه شده است. با توجه به نتایج، کمترین شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها مربوط به نمونه OC5 (‎۰/۲ Log (CFU/g)‎ در روز صفر) بود، درحالی‌که نمونه OD2 بیشترین شمارش میکروبی (‎۲/۶۳ Log (CFU/g)‎ در روز ۷۰) را داشت. پایین‌تر بودن شمارش کلی میکروارگانیسم‌های نمونه OC5 می‌تواند به این دلیل باشد که در این تیمار هم آب‌نمک و هم کنسانتره تحت تیمار ازن قرار گرفته‌اند و به همین خاطر بار میکروبی بیشتر کاهش یافته است. ضمن آنکه غلظت بالاتر اُزن (۵ ppm) باعث کاهش بیشتر بار میکروبی در مقایسه با غلظت ۲ ppm می‌گردد. بالاتر بودن شمارش میکروبی در نمونه OD2 نیز بدین دلیل است که فقط آب‌نمک تحت تیمار قرار گرفته و ارگانیسم‌های درون کنسانتره بر خلاف سایر تیمارها تحت تأثیر مستقیم اُزن قرار نگرفته‌اند. دوز کمتر اُزن نیز اثر بازدارندگی کمتری نسبت به دوز بالاتر آن دارد. شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در نمونه‌ها ابتدا تا روز ۷۰ به‌طور معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) افزایش و در ادامه تا انتهای دوره رسیدگی کاهش یافت. دلیل رشد ابتدایی میکروارگانیسم‌ها فراهم بودن مواد مغذی کافی و دردسترس می‌باشد، اما در ادامه، تجمع اسید لاکتیک به همراه تولید دیگر متابولیت‌های بازدارنده توسط باکتری‌های اسید لاکتیک، مانند دی‌اکسید کربن، دی‌استیل، پراکسید هیدروژن و باکتریوسین‌ها باعث کاهش شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها می‌گردند (Şanlıbaba & Güçer, 2015). شمارش کلی نمونه‌های شاهد و OD2 در مقایسه با سایر تیمارها به‌طور معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) بیشتر بود، هرچند بین این دو نمونه از این نظر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (به جز روز صفر و ۷۰). طی دوره رسیدگی نیز شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در پنیرهای

تیمار شده با دوز بالاتر (۵ ppm) اُزن، به‌طور معنی‌داری (p ≤ ۰/۰۵) کمتر از نمونه‌های تیمار شده با دوز پایین‌تر (۲ ppm) اُزن بود که به دلیل مقادیر بالاتر اُزن محلول می‌باشد.

نتایج مطالعه ذنوبی و گلی (Zonoubi & Goli, 2021) بر روی پنیر فتا نشان داد که شمارش کلی باکتری‌ها طی ۶۰ روز رسیدگی از ۹/۳۶ به ۷/۷۷ log CFU/g کاهش یافت. همچنین یافته‌های دیژاندینو و همکاران (Diezhandino *et al.*, 2015) بر روی پنیر اسپانیایی در طول دوره رسیدگی ۱۲۰ روزه، حاکی از روند کاهشی باکتری‌های مزوفیل هوازی از ۸/۵۲ به ۶/۹۵ log CFU/g بود.

هر چند در استاندارد ملی حد مجازی برای شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در پنیر رسیده آب‌نمکی مشخص نشده، اما بیشینه تعداد کلی‌فرم‌ها و کپک و مخمر به ترتیب ۱۰ و ۱۰^{۲}CFU/g تعیین گردیده است. علاوه بر این، تعداد *اشریشیاکلی* و استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت در هر گرم نمونه و همچنین تعداد سالمونلا در ۲۵ گرم نمونه نیز می‌بایست منفی باشد (ISIRI, 2019).

بررسی آلکسوپولوس و همکاران (Alexopoulos *et al.*, 2017) بر روی تأثیر اُزن بر پنیر فتا نشان داد که شمارش کلی نمونه‌ها در ابتدا افزایش و در انتهای دوره نگهداری به حدود ۷ log CFU/g کاهش یافت. همچنین، نمونه‌های تیمار شده با اُزن در زمان‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ دقیقه شمارش کلی کمتری را نسبت به نمونه شاهد نشان دادند. نتایج کاوالکانته و همکاران (Cavalcante *et al.*, 2013) در مورد تأثیر اُزن بر روی پنیر برزیلی طی دوره نگهداری نشان داد نمونه‌هایی که یک و دو دقیقه در معرض گاز اُزن قرار گرفتند شمارش کلی مزوفیل‌های هوازی اولیه کمتری (۴/۹۵ log CFU/g) نسبت به نمونه شاهد (log ۲/۲۷×۱۰^{۲} CFU/g) داشتند. آنها عنوان کردند که اُزن‌زنی فقط تعداد اولیه میکروارگانیسم‌ها را کاهش داد، اما بر سرعت رشد آنها اثر کاهشی نداشت.



شکل ۹- تأثیر تیمار اُزن بر شمارش کلی میکروارگانیسم‌های پنیر طی دوره رسیدگی
Fig. 9. The effect of ozone treatment on the microbial total counts of cheese during ripening

تأثیر تیمار اُزن بر ویژگی‌های حسی پنیر طی دوره رسیدگی

در شکل ۱۰ اثر تیمار اُزن بر ویژگی‌های حسی (رنگ و ظاهر، آروما، طعم، بافت و پذیرش کلی) نمونه‌های پنیر در ابتدا (روز صفر) و انتهای (روز ۱۰۵) دوره رسیدگی نشان داده شده است. در بیشتر تیمارها، امتیاز حسی پنیرهای ۱۰۵ روزه در مقایسه با پنیرهای ابتدای دوره رسیدگی به‌طور معنی‌داری (p ≤ ۰/۰۵) بالاتر بود که می‌توان آن را به تولید محصولات حاصل از واکنش‌های مهم دوره رسیدگی، به‌ویژه پروتئولیز و لیپولیز، نسبت داد. رنگ و ظاهر پنیرهای ۱۰۵ روزه تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. در اکثر تیمارها نیز، هرچند افزایش غلظت اُزن از ۲ به 5 ppm باعث افزایش امتیاز رنگ و ظاهر نمونه‌های تیمار شده گردید، اما این افزایش معنی‌دار نبود. این افزایش امتیاز رنگ را می‌توان به اثر سفیدکنندگی بیشتر غلظت بالاتر اُزن نسبت داد. لازم به ذکر است که سفید بودن رنگ پنیرهای آب‌نمکی ایرانی برای مصرف‌کننده اهمیت بالایی دارد. تفاوت امتیاز آرومای پنیرهای روز ۱۰۵ دوره رسیدگی نیز معنی‌دار نبود. نمونه شاهد در هر دو روز رسیدگی آرومای پایین‌تری نسبت به سایر نمونه‌ها داشت. طعم پنیرهای ۱۰۵ روزه نیز با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نداشتند و این حالت بین پنیرهای ابتدای دوره رسیدگی نیز مشاهده شد. امتیاز بافت نمونه‌ها در روز ۱۰۵ رسیدگی تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (به جز نمونه‌های OD5 با OB5) و این تفاوت در پنیرهای ابتدای دوره رسیدگی نیز معنی‌دار نبود.

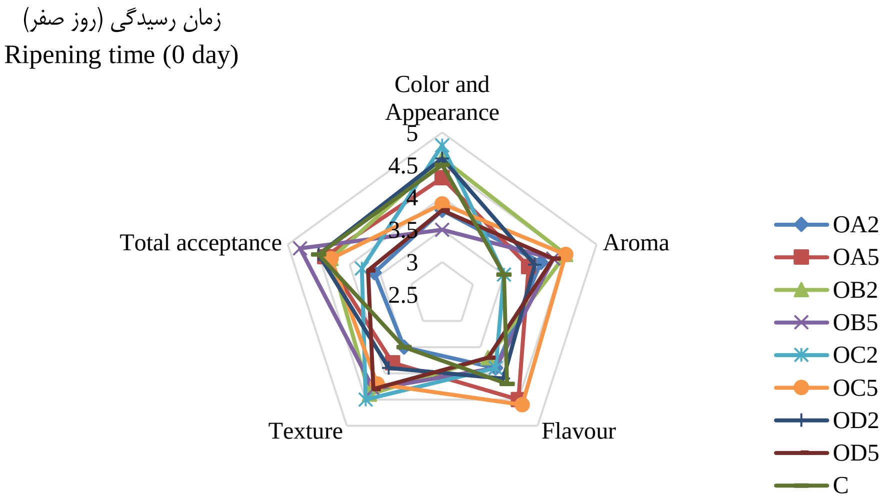
نمونه‌های شاهد و OC5 در روز ۱۰۵ دوره رسیدگی با امتیاز ۴/۹ بالاترین امتیاز پذیرش کلی را داشتند، هر چند این امتیاز تفاوت معنی‌داری با امتیاز سایر نمونه‌ها (به جز نمونه‌های OA2 و OA5 با امتیاز ۴/۴) نداشت. نمونه OA2 با امتیازهای ۴/۴ در روز ۱۰۵ و ۳/۶ در ابتدای دوره رسیدگی کمترین میزان پذیرش کلی را در میان سایر نمونه‌ها داشت. از آنجا که در تیمار OA اُزن همراه با کشت آغازگر استفاده می‌شود، لذا می‌تواند باعث تضعیف رشد و فعالیت آغازگر شده و نقش آغازگر در بهبود ویژگی‌های حسی را تحت تاثیر قرار دهد. به‌طور کلی، نمونه OD5 بیشترین امتیاز رنگ و ظاهر و بافت و نمونه OC5 بالاترین امتیاز آروما و پذیرش کلی (در کنار نمونه شاهد) را کسب کردند، درحالی‌که پایین‌ترین امتیاز آروما و بافت مربوط به نمونه شاهد بود. بنابراین، نتایج ارزیابی حسی نشان داد که هرچند استفاده از تیمار اُزن توانست برخی از ویژگی‌های حسی پنیرها را ارتقا دهد، اما در کل این افزایش نسبت به نمونه شاهد، خصوصاً در انتهای دوره رسیدگی، معنی‌دار نبود.

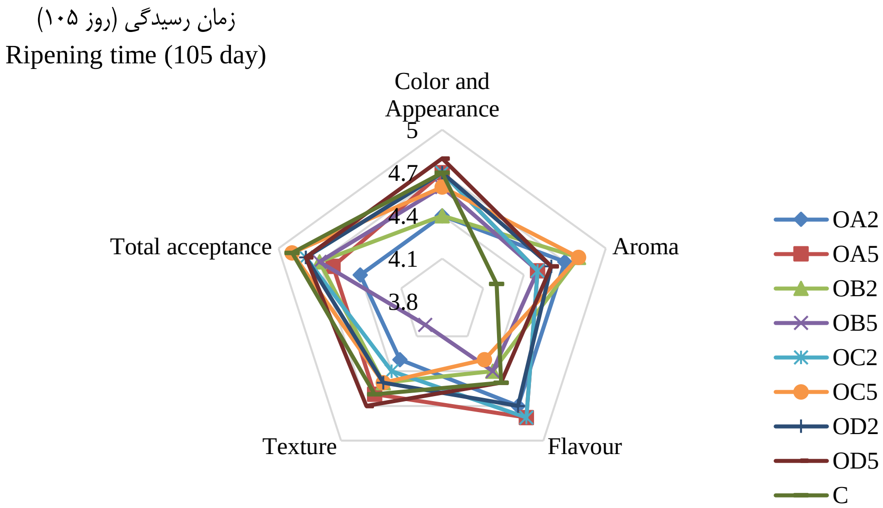
نتایج پژوهش عیاش و همکاران (Ayyash *et al.*, 2018) بر روی پنیر عکاوی نشان داد که طعم و آرومای نمونه‌ها طی ۲۱ روز نگهداری بهبود یافتند. آنها دلیل این امر را تولید پپتیدها عنوان کردند. مطالعه نظری و همکاران (Nazari *et al.*, 2020) بر روی پنیر فتای کم‌چرب نیز نشان داد که ظاهر، مزه و پذیرش کلی نمونه‌ها طی ۶۰ روز رسیدگی به‌طور معنی‌داری بهبود پیدا کرد، امّا در آروما و بافت پنیرها تغییر معنی‌داری مشاهده نشد.

نتایج پژوهش حمدی و همکاران (Hamdy *et al.*, 2021) بر روی پنیر فتای کم‌چرب در طول دوره رسیدگی حاکی از افزایش امتیازات بافت، طعم و پذیرش کلی در انتهای دوران رسیدگی بود. آنها علّت بهبود بافت را کاهش رطوبت طی دوره رسیدگی و دلیل ارتقای طعم را فعالیت‌های متابولیکی آغازگرها عنوان کردند.

بررسی مارون و همکاران (Marrone *et al.*, 2014) بر روی خواص فیزیکوشیمیایی و حسی پنیر ایتالیایی طی دوره رسیدگی نشان داد که تمامی امتیازات حسی در طول دوره رسیدگی افزایش یافتند. این محققین، دلیل ارتقای امتیاز طعم و آرومای پنیرها را آزاد شدن اسیدهای چرب و آمینه طی دوره رسیدگی عنوان کردند. پژوهش هوانگ و همکاران (Hwang *et al.*, 2007) بر روی مقایسه خواص فیزیکوشیمیایی و حسی شیر تغلیظ شده انجمادی تیمار شده با اُزن با شیر تغلیظ شده تبخیری طی نگهداری نشان داد که پذیرش کلی شیر تغلیظ شده انجمادی بالاتر از شیر تغلیظ شده تبخیری بود. نتایج پژوهش آلکسوپولوس و همکاران (Alexopoulos *et al.*, 2017) بر روی تأثیر اُزن بر محصولات تخمیری نشان داد نمونه‌های ماستی که ۶۰ ثانیه در معرض تیمار اُزن بودند تغییرات طعم، رنگ و پذیرش کلی معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد نداشتند، هرچند امتیاز پذیرش کلی نمونه‌های تیمار شده با اُزن نسبت به نمونه شاهد بیشتر بود. نمونه‌های پنیر فتا هم که ۶۰ دقیقه در معرض تیمار اُزن قرار داشتند، تغییرات رنگ معنی‌داری را نشان ندادند، امّا امتیازات طعم و پذیرش کلی نمونه‌های پنیر تیمار شده با اُزن نسبت به نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری پایین‌تر بود.

در پژوهشی از اُزن در تولید شیر خشک پس‌چرخ استفاده گردید. نتایج حاکی از کاهش امتیازات حسی شیر خشک با افزایش غلظت اُزن از ۲ ppb به ۳۲ ppb بود. همچنین گزارش گردید که امتیاز حسی شیر خشک کامل، به‌دلیل اکسایش لیپیدی و بروز بدطعمی ناشی از واکنش اُزن با چربی، پایین‌تر از امتیاز حسی شیر خشک پس‌چرخ بود (Varga & Szigeti, 2016). محمدی و همکاران (Mohammadi *et al.*, 2017) اثر اُزن بر ویژگی‌های میکروبی و فیزیکوشیمیایی شیر را مورد بررسی قرار داده و عنوان کردند که اُزن با تخریب و کاهش محتوای کارتنوئیدی شیر، رنگ آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. سرت و همکاران (Sert *et al.*, 2020) خامه را تحت تیمار اُزن قرار داده و مشاهده کردند که سفتی و قوام خامه تیمار شده افزایش یافت. آنها عنوان کردند که این افزایش ممکن است به‌دلیل تجمع یا ادغام جزئی چربی شیر تیمار شده با اُزن باشد. این پژوهشگران کاهش زردی خامه تیمار شده با اُزن را نیز گزارش کرده و آن را ناشی از تخریب کارتنوئیدها تحت تأثیر اُزن بیان کردند. این تخریب مبتنی بر این فرضیه است که همه پیوندهای دوگانه مولکول‌های کاروتنوئید مکان‌های بالقوه‌ای برای واکنش شیمیایی اُزن هستند که منجر به تولید طیف گسترده‌ای از محصولات اکسایشی می‌شوند (Perna *et al.*, 2022). تابلا و روآ (Tabla & Roa, 2022) تأثیر اُزن گازی بر کیفیت میکروبی و حسی نوعی پنیر نرم طی دوره رسیدگی دو ماهه را مورد مطالعه قرار داده و مشاهده کردند که پنیر تیمار شده با اُزن از نظر ظاهر، آروما، بافت و مزه تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد نداشت. نتایج گراسو و همکاران (Grasso *et al.*, 2023) نیز در ارتباط با بررسی اثر تیمار ازن گازی (۲۰۰ pbb و ۳۰۰) بر ویژگی‌های کیفی پنیر پکورینو طی ۱۵۰ روز رسیدگی نشان داد که ویژگی‌های حسی (ظاهر، طعم، مزه، بافت، پذیرش کلی) نمونه های تیمار شده تفاوت معنی‌داری با نمونه شاهد نداشت.





شکل ۱۰- تأثیر تیمار اُزن بر ویژگی‌های حسی پنیر در ابتدا و انتهای دوره رسیدگی

Fig. 10. The effect of ozone treatment on sensory characteristics of cheese at the beginning and end of ripening

نتیجه‌گیری

در این پژوهش، اثر استفاده از گاز اُزن در مراحل مختلف تولید بر ویژگی‌های میکروبی، فیزیکوشیمیایی و حسی پنیر فراپالایش آب‌نمکی طی دوره رسیدگی مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج، مقادیر مواد جامد کل، خاکستر، نمک، عدد اسیدی و آب‌اندازی پنیرها با افزایش زمان رسیدگی به‌طور معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) افزایش یافت، درحالی‌که مقادیر پروتئین و چربی نمونه‌ها به‌طور معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) کاهش پیدا کرد. شمارش کلی میکروارگانیسم‌های نمونه‌ها نیز ابتدا تا روز ۷۰ افزایش پیدا کرد، اما در ادامه تا انتهای دوره رسیدگی کاهش یافت. در بیشتر تیمارها، امتیاز حسی پنیرهای انتهای دوره رسیدگی در مقایسه با پنیرهای ابتدای دوره رسیدگی به‌طور معنی‌داری ($p \leq ۰/۰۵$) بالاتر بود و هرچند استفاده از تیمار اُزن توانست برخی از ویژگی‌های حسی پنیرها را ارتقا دهد، اما در کل این افزایش نسبت به نمونه شاهد، خصوصاً در انتهای دوره رسیدگی، معنی‌دار نبود. به‌طور کلی، پنیرهای تیمار شده با دوز بالاتر اُزن، مقادیر عدد اسیدی بیشتری در مقایسه با نمونه‌های تیمار شده با دوز پایین‌تر اُزن داشتند. همچنین، در طول دوره رسیدگی، شمارش کلی میکروارگانیسم‌ها در پنیرهای تیمار شده با دوز ۵ ppm اُزن، کمتر از نمونه‌های تیمار شده با دوز ۲ ppm اُزن بود. تأثیرات مثبت میکروبی و فیزیکوشیمیایی تیمار اُزن بر روی نمونه‌های پنیر باعث شد تا ماندگاری این پنیر آب نمکی تا ۱۰۵ روز (۳۰ روز بیشتر از حالت معمول) افزایش پیدا کند، بدون آنکه بر خواص حسی محصول اثر منفی داشته باشد. بنابراین، می‌توان از اُزن به‌عنوان یک تیمار غیرحرارتی در افزایش ماندگاری و بهبود برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی پنیر استفاده نمود. هرچند انتخاب تیمار مطلوب بستگی به اهمیت فاکتورهای مورد نظر ما دارد، با اینحال چنانچه پایداری اکسایشی، زنده‌مانی کشت

آغازگر و آب‌اندازی را معیارهای مهم در نظر بگیریم تیمار OB2 می‌تواند انتخاب مناسبی باشد.

References

1. Alexopoulos, A., Plessas, S., Kourkoutas, Y., Stefanis, C., Vavias, S., Voidarou, C., Mantzourani, I., & Bezirtzoglou, E. (2017). Experimental effect of ozone upon the microbial flora of commercially produced dairy fermented products. *International Journal of Food Microbiology*, *246*, 5-11. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.01.018
2. Allai, F.M., Azad, Z.A.A., Mir, N.A., & Gul, K. (2022). Recent advances in non-thermal processing technologies for enhancing shelf life and improving food safety. *Applied Food Research*, 100258. https://doi.org/10.1016/j.afres.2022.100258
3. AOAC. (2005). Official Methods of Analysis of the AOAC (Association of Official Analytical Chemists) International, G. W. Latimer and W. Horwitz (Eds.), 18th ed, in total solids (TS) matter (oven-drying method) method 926.08, ash (incineration at 550ºC method) method 935.42, protein content (micro-Kjeldahl method) method 920.123, Gaithersburg, MD.
4. Atasoy, A.F., & Türkoğlu, H. (2008). Changes of composition and free fatty acid contents of Urfa cheeses (a white-brined Turkish cheese) during ripening: Effects of heat treatments and starter cultures. *Food Chemistry*, *110*, 598-604. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.02.046
5. Ayyash, M., Abu-Jdayil, B., Hamed, F., & Shaker, R. (2018). Rheological, textural, microstructural and sensory impact of exopolysaccharide-producing Lactobacillus plantarum isolated from camel milk on low-fat akawi cheese. *Lwt*, *87*, 423-431. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.09.023
6. Beig Mohammadi, M., Bolandi, M., & Ghodusi, H.B. (2015). Production and physicochemical, rheological, sensory analysis of "Lour" cheese. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, *12*, 41-49
7. BSI. (1989). Standard no. 696: Gerber method for the determination of fat in milk and milk products. London, UK: British Standards Institution.
8. Cankurt, H. (2019). The effects of adding different stabilizers in brine on the physicochemical, sensory, microbiological and textural properties of white cheese. *Foods*, *8*, 133. https://doi.org/10.3390/foods8040133
9. Cavalcante, D., Júnior, B.L., Tribst, A., & Cristianini, M. (2013). Microbiological quality of Minas Frescal cheese treated with ozonated water. *International Food Research Journal*, *20*, 2911
10. Clark, S., Costello, M., Drake, M., & Bodyfelt, F. (2009). *The sensory evaluation of dairy products*. Springer. https://doi.org/10.1007/978-0-387-77408-4
11. Diezhandino, I., Fernández, D., González, L., McSweeney, P., & Fresno, J. (2015). Microbiological, physico-chemical and proteolytic changes in a Spanish blue cheese during ripening (Valdeón cheese). *Food Chemistry*, *168*, 134-141. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.07.039
12. Dorosti, S., Bazmi, A., Ghanbarzadeh, B., & Ayaseh, A. (2011). Effect of brine concentration on the physicochemical properties of Iranian White cheese. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, *8*, 1-10
13. Eglezos, S., & Dykes, G.A. (2018). Reduction of environmental listeria using gaseous ozone in a cheese processing facility. *Journal of Food Protection*, *81*, 795-798. https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-17-361
14. Forouzan, S., Khosroushahi Asl, A., Taslimi, A., Madadadlou, A., & Mashayekh, M. (2009). Study of the effects of microbial, recombinant and animal rennets on some of the qualitative and quantitative properties of Iranian white cheese. *Journal of Food Science and Technology (Iran)*, *6*, 63-72
15. Gholamhosseinpour, A., Tehrani, M.M., & Razavi, S.M.A. (2022). The effects of commercial mixed-strain starter cultures on the chemical and sensory characteristics of UF-Feta cheese analogue during ripening. *Iranian Food Science & Technology Research Journal*, *17*(6). https://doi.org/10.22067/ifstrj.2021.70493.1050
16. Gobbetti, M., Burzigotti, R., Smacchi, E., Corsetti, A., & De Angelis, M. (1997). Microbiology and biochemistry of Gorgonzola cheese during ripening. *International Dairy Journal*, *7*, 519-529. https://doi.org/10.1016/S0958-6946(97)00047-2
17. Grasso, C., Eramo, V., Lembo, M., Forniti, R., Carboni, C., & Botondi, R. (2023). Effects of gaseous ozone treatment on the mite pest control and qualitative properties during ripening storage of pecorino cheese. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, *103*, 2124-2133. https://doi.org/10.1002/jsfa.12400
18. Gunasekaran, S., & Ak, M.M. (2002). *Cheese rheology and texture*. CRC press.
19. Hamdy, A.M., Ahmed, M.E., Mehta, D., Elfaruk, M.S., Hammam, A.R., El-Derwy, Y.M. (2021). Enhancement of low-fat Feta cheese characteristics using probiotic bacteria. *Food Science & Nutrition*, *9*, 62-70. https://doi.org/10.1002/fsn3.1889
20. Hayaloglu, A.A., Fox, P.F., Guven, M., Cakmakci, S. (2007). Cheeses of Turkey: 1. Varieties ripened in goat-skin bags. *Le Lait*, *87*, 79-95. https://doi.org/10.1051/lait:2007006

21. Hwang, J., Lee, S., Park, H., Min, S., & Kwak, H. (2007). Comparison of physicochemical and sensory properties of freeze-concentrated milk with evaporated milk during storage. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, *20*, 273-282. https://doi.org/10.5713/ajas.2007.273
22. IDF. (1988). Cheese and processed cheese-determination of salt content. Standard 12 B. Brussels, Belgium: *International Dairy Federation*.
23. ISIRI. (2015). Microbiology of the food chain, horizontal method for the enumeration of microorganisms, Part 1: colony count at 30 °C by the pour plate technique. *Iran National Standards Organization*, No. 5272-1.
24. ISIRI. (2019). Microbiology of milk and milk products, Specifications and test methods, Amd. No.1. *Iran National Standards Organization*, No. 2406-1.
25. ISIRI. (2022). Milk and milk products, determination of titrable acidity and pH, test method. *Iran National Standards Organization*, 2nd Revision, No. 2852.
26. Karami, M., Ehsani, M., Mousavi, S., Rezaei, K., & Safari, M. (2009). Microstructural properties of fat during the accelerated ripening of ultrafiltered-Feta cheese. *Food Chemistry*, *113*, 424-434. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.104
27. Karimi, R., Mortazavian, A., & Karami, M. (2012). Incorporation of *Lactobacillus casei* in Iranian ultrafiltered Feta cheese made by partial replacement of NaCl with KCl. *Journal of Dairy Science*, *95*, 4209-4222. https://doi.org/10.3168/jds.2011-4872
28. Kaya, S. (2002). Effect of salt on hardness and whiteness of Gaziantep cheese during short-term brining. *Journal of Food Engineering*, *52*, 155-159. https://doi.org/10.1016/S0260-8774(01)00098-X
29. Khadre, M., Yousef, A., & Kim, J.G. (2001). Microbiological aspects of ozone applications in food: a review. *Journal of Food Science*, *66*, 1242-1252. https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb15196.x
30. Kunicka-Styczyńska, A., & Rajkowska, K. (2011). Physiological and genetic stability of hybrids of industrial wine yeasts *Saccharomyces sensu* stricto complex. *Journal of Applied Microbiology*, *110*, 1538-1549. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2011.05009.x
31. Lopez, C., Camier, B., & Gassi, J.-Y. (2007). Development of the milk fat microstructure during the manufacture and ripening of Emmental cheese observed by confocal laser scanning microscopy. *International Dairy Journal*, *17*, 235-247. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2005.12.015
32. Marrone, R., Balestrieri, A., Pepe, T., Vollano, L., Murru, N., Michael, J., & Anastasio, A. (2014). Physicochemical composition, fatty acid profile and cholesterol content of “Pecorino Carmasciano” cheese, a traditional Italian dairy product. *Journal of Food Composition and Analysis*, *36*, 85-89. https://doi.org/10.1016/j.jfca.2014.05.006
33. Milci, S., Goncu, A., Alpkent, Z., & Yaygin, H. (2005). Chemical, microbiological and sensory characterization of Halloumi cheese produced from ovine, caprine and bovine milk. *International Dairy Journal*, *15*, 625-630. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.10.009
34. Mohammadi, H., Mazloomi, S.M., Eskandari, M.H., Aminlari, M., & Niakousari, M. (2017). The effect of ozone on aflatoxin M1, oxidative stability, carotenoid content and the microbial count of milk. *Ozone: Science & Engineering*, *39*, 447-453. https://doi.org/10.1080/01919512.2017.1329647
35. Nazari, S.M., Mortazavi, A., Hesari, J., & Tabatabaei Yazdi, F. (2020). Proteolysis and textural properties of low-fat ultrafiltered Feta cheese as influenced by maltodextrin. *International Journal of Dairy Technology*, *73*, 244-254. https://doi.org/10.1111/1471-0307.12642
36. Nunez-Elisea, R., & Davenport, T.L. (1986). Abscission of mango fruitlets as influenced by enhanced ethylene biosynthesis. *Plant Physiology*, *82*, 991-994. https://doi.org/10.1104/pp.82.4.991
37. O'Donnell, C., Tiwari, B.K., Cullen, P., & Rice, R.G. (2012). *Ozone in food processing*. John Wiley & Sons.
38. Özer, B., Robinson, R., & Grandison, A. (2003). Textural and microstructural properties of urfa cheese (a white-brined Turkish cheese). *International Journal of Dairy Technology*, *56*, 171-176. https://doi.org/10.1046/j.1471-0307.2003.00100.x
39. Perna, A., Gambacorta, E., Simonetti, A., Grassi, G., & Scopa, A. (2022). Effect of ozone treatment exposure time on oxidative stability of cream milk. *European Journal of Lipid Science and Technology*, *124*, 2100238. https://doi.org/10.1002/ejlt.202100238
40. Şanlıbaba, P., & Güçer, Y. (2015). Antimicrobial activity of lactic acid bacteria. *Journl International Science Publication*, *3*, 451-457.
41. Sarbazi, M., Hesari, J., Azadmard-Damirchi, S., & Rafat, S. (2015). Effect of pasteurization and packaging on the physicochemical and sensory properties of pot (Kope) cheese. *Journal Food Research and Technology*, *24*, 507-517.
42. Segat, A., Misra, N., Fabbro, A., Buchini, F., Lippe, G., Cullen, P.J., & Innocente, N. (2014). Effects of ozone processing on chemical, structural and functional properties of whey protein isolate. *Food Research International*, *66*, 365-372. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.10.002.

43. Sert, D., & Mercan, E. (2021). Assessment of powder flow, functional and microbiological characteristics of ozone-treated skim milk powder. *International Dairy Journal*, *121*, 105121. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2021.105121
44. Sert, D., Mercan, E., & Kara, Ü. (2020). Butter production from ozone-treated cream: Effects on characteristics of physicochemical, microbiological, thermal and oxidative stability. *LWT*, *131*, 109722. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109722
45. Shahab-Lavasani, A.R., Ehsani, M.R., Mirdamadi, S., & Ebrahim Zadeh Mousavi, M.A. (2012). Changes in physicochemical and organoleptic properties of traditional Iranian cheese Lighvan during ripening. *International Journal of Dairy Technology*, *65*, 64-70. https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2011.00724.x
46. Shanshool, A. (2020). Study the effect of ozone gas in milk treatment on chemical and microbial properties of soft cheese ozone gas effect on milk. *Indian Journal of Ecology*, *47*.
47. Sheelamary, M., & Muthukumar, M. (2011). Effectiveness of ozone in inactivating Listeria monocytogenes from milk samples. *World Journal of Young Researchers*, *1*, 40-44
48. Soleimani-Rambod, A., Zomorodi, S., Mortazavi, S.A., & Khosroshahi Asl, A. (2015). The effect of direct acidification of milk on the viability of Bifidobacterium lactis (B94 LAFTI) during ripening of Iranian white cheese. *Journal of Innovation in Food Science and Technology*, *7*, 26-31
49. Suprapto, D., Radiati, L.E., Mahdi, C., & Evanuarini, H. (2021). Physicochemical quality and microbial activity of dairy milk with ozonation. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak (JITEK)*, *16*, 117-124. https://doi.org/10.21776/ub.jitek.2021.016.02.5
50. Tabla, R., & Roa, I. (2022). Use of gaseous ozone in soft cheese ripening: Effect on the rind microorganisms and the sensorial quality. *LWT*, *170*, 114066. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114066
51. Varga, L., & Szigeti, J. (2016). Use of ozone in the dairy industry: A review. *International Journal of Dairy Technology*, *69*, 157-168. https://doi.org/10.1111/1471-0307.12302
52. Zonoubi, R., & Goli, M. (2021). The effect of complete replacing sodium with potassium, calcium, and magnesium brine on sodium-free ultrafiltration Feta cheese at the end of the 60-day ripening period: Physicochemical, proteolysis–lipolysis indices, microbial, colorimetric, and sensory evaluation. *Food Science & Nutrition*, *9*, 866-874. https://doi.org/10.1002/fsn3.2050